

СООТНОШЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ТОРМОЗНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В АНТИНОЦИЦЕПТИВНОМ ЯДРЕ RAPHE MAGNUS НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В УСЛОВИЯХ ПРОТЕКЦИИ ГИДРОКОРТИЗОНОМ

© 2022 г. М. В. Погосян¹, М. Э. Овсепян¹, М. А. Даниелян¹,
Л. Э. Амбарцумян¹, Л. П. Манукян¹, Дж. С. Саркисян^{1,*}

¹ Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА, Ереван, Армения

*e-mail: johnsarkissyan@gmail.com

Поступила в редакцию 08.10.2021 г.

После доработки 04.11.2021 г.

Принята к публикации 05.11.2021 г.

При нейродегенеративных болезнях, чаще при болезни Паркинсона (БП), в нейродегенерацию вовлекаются антиноцицептивные центры, что сопровождается постоянной болью, не снимаемой наркотическими веществами. В 3 сериях экспериментов на 13 белых беспородных крысах проведен анализ импульсной активности 390 одиночных нейронов Raphe magnus nucleus (RMG) при высокочастотной стимуляции (ВЧС) Periaqueductal gray matter (PAG) в норме, на ротеноновой модели БП и с протекцией гидрокортизоном. На основе программного математического анализа усредненной степени частотной выраженности постстимульных депрессорных и возбуждающих синаптических эффектов на модели БП выявлено резкое превышение тетанических и посттетанических возбуждающих эффектов. При этом многократно уменьшилось количество нейронов, отвечающих аналогичными депрессорными синаптическими реакциями, а с увеличением таковых – отвечающих возбуждающими. Отмеченное является результатом чрезмерной возбудимости. В условиях воздействия гидрокортизона депрессорные синаптические реакции резко повысились со значительным повышением количества вовлеченных в них нейронов. Это является свидетельством нейтрализации возбуждающих реакций, с естественным уменьшением последних. С учетом выявленного нами в предыдущих исследованиях протекторного назначения депрессорных реакций очевиден эффект гидрокортизона. Более того, на модели БП в нейронах RMG при ВЧС PAG показано выраженное (3- и 5-кратное) увеличение престаимпульной частоты активности, предшествующей депрессорным постстимульным синаптическим эффектам. В условиях протекции гидрокортизоном получено значительное (7- и 9-кратное и более) снижение частоты престаимпульной импульсной активности, предшествующей возбуждающим постстимульным проявлениям активности, что явно свидетельствует в пользу протекции. Постстимульная частота активности нейронов RMG, на модели БП, сопровождаемая возбуждающими синаптическими эффектами namного (7- и 5-кратно и более) превысила норму, что также свидетельствует о громадном повышении возбудимости нейронов. В условиях протекции произошло мощное (18.3- и 17.7-кратное) снижение постстимульной частоты импульсной активности нейронов RMG на модели БП, сопровождаемой возбуждающими постстимульными эффектами. Следует полагать успешный протекторный эффект гидрокортизона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, одиночная нейрональная активность нейронов RMG, высокочастотная стимуляция PAG, гидрокортизон

DOI: 10.31857/S0044452922010065

Понимание эволюции механизмов и поведения, важных для боли, начинает появляться в результате широкомасштабных исследований клеточных механизмов и поведенческих реакций, связанных с активацией ноцицепторов и повреждением тканей, воспалением и экологическим контекстом этих реакций у различных видов, в особенности у грызунов и людей [1]. В последние годы механизмам боли при нейродегенеративных болезнях (НБ)

начали уделять серьезное внимание [2], в то время как терапевтическая стратегия ограничивается симптоматическими средствами без оценки механизмов [3]. Механизм боли продолжает оставаться сложным и связанным с патологическими изменениями в структурах мозга, вовлекаемых в ноцицептивные механизмы. Необходимо дальнейшее серьезное изучение механизмов ее формирования для организации доступной терапевтической стра-

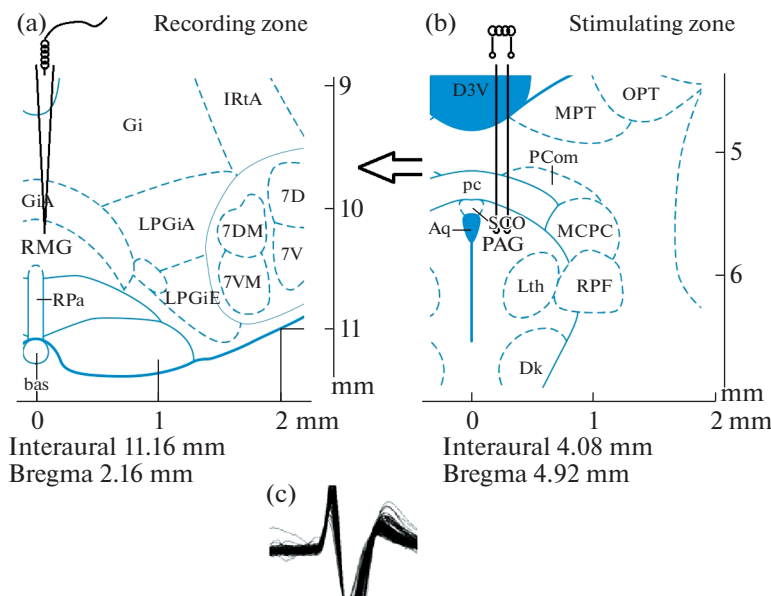


Рис. 1. Схема эксперимента по раздражению PAG и отведению из RMG. Стереотаксическое изображение пункта отведения нейронной активности – (а), зоны стимуляции – (b) и характерного потенциала действия – (с).

тегии [4]. Болезнь Паркинсона (БП), будучи прогрессирующей нейродегенеративной болезнью, затрагивает болевой процесс на многих уровнях, от периферических структур до высших центров [4]. Некоторые из этих структур рано поражаются при БП, как, например, большое ядро шва (raphe magnus nucleus –RMG), участок эндогенной болевой тормозной системы в росто-вентральном продолговатом мозге [5]. RMG следует отметить среди структур, играющих важную роль в модуляции спинальной ноцицептивной передачи, наряду с околоводопроводным серым веществом (Periaqueductal gray matter – PAG) и голубым пятном (Locus Coeruleus – LC). К тому же RMG воспринимает проекции от PAG [6]. Эти структуры участвуют в нисходящей регуляции анти-ноцицептивных путей путем торможения ноцицептивных стимулов от нейронов дорзального рога [7, 8]. Нарушение в этих тормозящих боль структурах, как правило, вызывает более выраженное ощущение боли [9, 6].

В данной работе исследовали клеточные механизмы активации ноцицепторов на примере соотношения возбудительных и депрессорных синаптических ответов одиночных нейронов RMG при стимуляции PAG, с целью оценки механизмов их поражения на модели болезни Паркинсона, индуцированной односторонним введением ротенона и в условиях протекции гидрокортизоном.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведены электрофизиологические исследования на 13 белых беспородных крысах (230±30 г): интактных (n = 3), на ротеноновой модели БП, ин-

дуцированной унилатеральным введением ротенона, и выдержанных до опыта 4 нед (n = 4), и в условиях протекции гидрокортизоном (по 14 инъекций через день в дозе 1.25 мг/кг, 0.1%) (n = 6). Введение ротенона осуществляли в условиях нембуталового наркоза (40 мг/кг, в/б) из расчета 12 мкг в 0.5 мкл Димексида (со скоростью 1 мкл/мин) в “medial forebrain bundle” по координатам стереотаксического атласа [10] (AP+0.2; L±1.8; DV+8 мм). Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [11]. В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. Стеклообразные микроэлектроды с диаметром кончика 1–2 мкм, заполненные 2M NaCl, вводили в RMG согласно стереотаксическим координатам (AP-11.6; L+0.2; DV+10.3 мм) для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов (рис. 1). Осуществляли высокочастотную стимуляцию (ВЧС) PAG вольфрамовыми электродами посредством прямоугольных толчков тока длительностью – 0.05 мс, амплитудой 0.12–0.18 мВ, силой тока 0.32 мА и частотой 100 Гц в течение 1 с, согласно стереотаксическим координатам (AP-4.92; L+0.3; DV+5.7 мм). Операции осуществляли на наркотизированных животных (уретан 1.2 г/кг в/б), зафиксированных в стереотаксическом аппарате.

Активность проявлялась в виде тетанической потенциации (ТП) и депрессии (ТД) с последующей посттетанической потенциацией (ПТП) и депрессией (ПТД) различной латентности, выраженности и длительности. Проводили программный

математический анализ одиночной спайковой активности 390 нейронов. Пре- и постстимульные проявления активности, а также значения фоновой импульсной активности оценивали on-line регистрацией и программным математическим анализом, позволяющим селекцию спайков амплитудной дискриминацией с выводом “растеров” перистимульного спайкинга нейронов, построением гистограмм суммы и диаграмм усредненной частоты спайков. Производили далее многоуровневую статистическую обработку в отдельности для пре- и постстимульного отрезков времени и периода ВЧС. Для сравниваемых групп спайкинга нейрональной активности, а также произвольно выбранных измерений в отдельном нейроне, строили суммированные и усредненные перистимульные (PETH Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average) с вычислением средней частоты спайков. Однородность двух независимых выборок контролировалась *t*-критерием Стьюдента. С целью повышения статистической достоверности перистимульных изменений межспайковых интервалов использовали также непараметрический двухвыборочный критерий Манна–Уитни Вилкоксона (Wilcoxon–Mann–Whitney test) [12], оценивающий однородность двух независимых выборок. Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 10–20-секундный интервал после действия стимула), использовалась разновидность указанного теста – *z*-тест, определяющий его асимптотическую нормальность. Учет критических значений в сравнении с таковыми нормально-распределения при уровнях значимости 0.05, 0.01 и 0.001 (для различных испытаний) показывает, что в большинстве случаев спайкинга нейрональной активности при ВЧС статистически значимое изменение достигало как минимум уровня 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Производили экстраклеточную регистрацию спайковой активности одиночных нейронов RMG в норме (122 нейрона, $n = 3$), на модели БП (149 нейронов, $n = 4$) и с протекцией гидрокортизоном (119 нейронов, $n = 6$). Посредством анализа на основе усредненного количества спайков (PETH), с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Average), были обнаружены следующие изменения нейрональной активности.

В нейронах RMG в ответ на ВЧС PAQ тетаническая депрессия в обеих последовательностях (ТД ПТД и ТД ПТП) в норме определялась порядка 1.66- и 2.0-кратного занижения престимульной активности соответственно (рис. 2а, группы А, В). Тетаническая потенциация, сопровождаемая посттетанической потенциацией и депрессией (ТП

ПТП и ТП ПТД), выявлялась в пределах 1.1- и 1.14-кратного превышения престимульной активности (рис. 2б, группы А, В). В нейронах RMG при ВЧС PAQ тетаническая депрессия на модели БП определялась в пределах 1.8- и 2.0-кратного снижения престимульной активности в обеих последовательностях соответственно (рис. 2с, группы А, В), а тетаническая потенциация исчислялась порядка 3.33- и 2.66-кратного превышения престимульной активности в обеих последовательностях (рис. 2д, группы А, В). Что же касается депрессорных постстимульных проявлений активности нейронов RMG при ВЧС PAQ, то при наличии почти одинаковых значений, в сравнении с нормой, общее количество нейронов, сопровождаемых депрессорными реакциями, на ротеноновой модели многократно уменьшилось. Очевидно чрезмерное синаптическое возбуждение, содействующее повышению частоты пре- и постстимульной активности в обеих последовательностях, характерное для нейродегенеративного поражения RMG. Наконец, в нейронах RMG при ВЧС PAQ, в условиях воздействия гидрокортизона, ТД в обеих депрессорных последовательностях достигала, соответственно, 10.5- и 13.0-кратного снижения престимульной активности (рис. 2е, группы А, В), а ТП в соответствующих возбуждающих постстимульных последовательностях исчислялась порядка лишь 3.0- и 1.25-кратного превышения престимульной активности (рис. 1ф, группы А, В).

Иными словами, при фактическом отсутствии разницы в постстимульных депрессорных реакциях, в нейронах RMG между нормой и патологией (1.66 и 2.0 против 1.8 и 2.0), резкий сдвиг имел место в постстимульных проявлениях активности (1.10 и 1.14 против 3.33 и 2.66), в то время как после воздействия гидрокортизона депрессорные реакции резко повышались в сравнении с БП (10.5 и 13.0 против 1.8 и 2.0). К тому же количество эффектов, вовлеченных в депрессорные реакции, также значительно повысилось в условиях протекции, достигнув 56 и 53. Очевиден протекторный эффект гидрокортизона с успешной нейтрализацией таковых возбуждающих – 67 и 65, с естественным уменьшением количества последних до 5 и 5 (рис. 2д, ф, группы А, В).

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбуждающих постстимульных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растеров пре- и постстимульных депрессорных, депрессорно-возбуждающих, возбуждающих и возбуждающе-депрессорных проявлений спайковой активности нейронов в норме, на модели БП, и в условиях протекции, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС, получены дисковые диаграммы для более наглядного представления степени выраженности в ча-

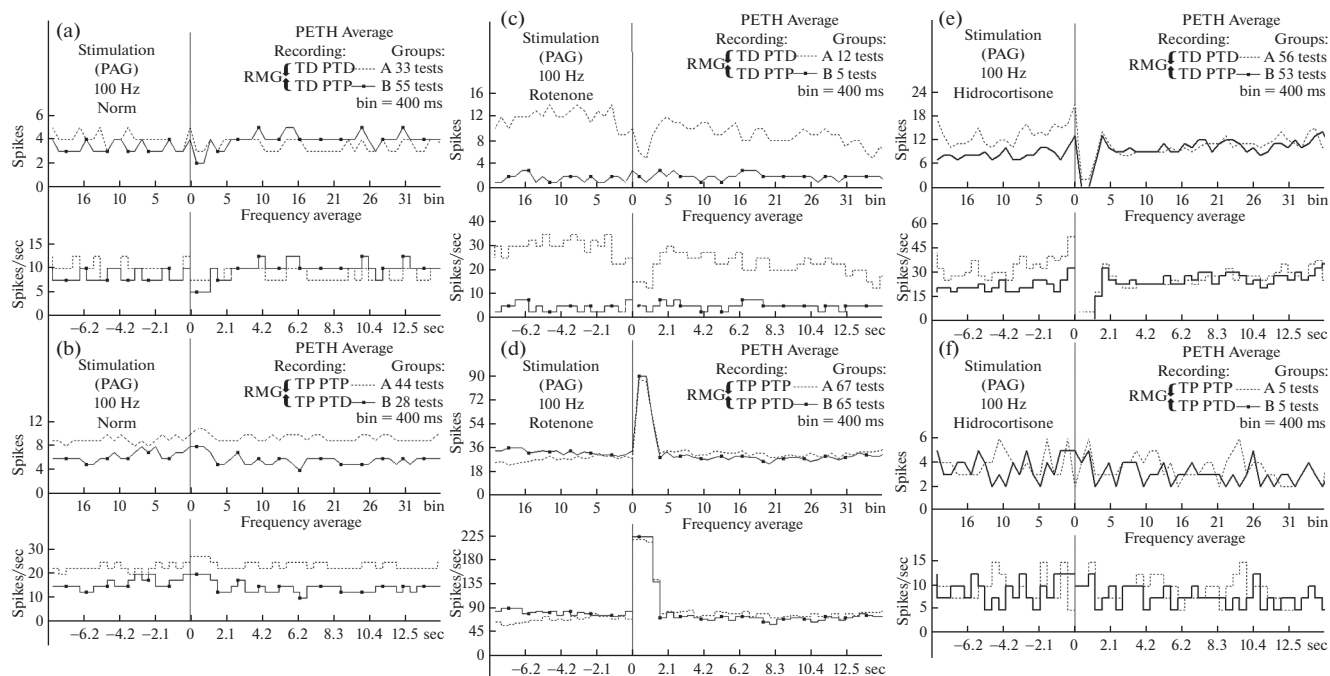


Рис. 2. Усредненные перистимульные (PETH Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average) депрессорных, депрессорно-возбудительных (а, с, е, Группы А, В) и возбудительных, возбудительно-депрессорных постстимульных проявлений активности нейронов RMG (b, d, f, Группы А, В) при ВЧС (100 Гц, 1 с) PAG в норме. (а, b), на модели БП (с, d) и в условиях воздействия гидрокортизона (е, f). Для групп указано количество испытаний (n).

стотном отображении (и в %) экспериментальных данных на рис. 6 (на основе рис. 3–5), которые привели к следующему выводу. Значения тетанической депрессии в депрессорной и депрессорно-возбудительной последовательности и уровни тетанической потенции в возбудительной и возбудительно-депрессорной последовательности нейронов RMG на ВЧС PAG в норме достигали 1.51- и 1.40-кратного снижения (рис. 3, 4; 6 части а, b), 1.30- и 1.29-кратного превышения (рис. 3, 4; 6 части с, d), в сравнении с престимульным уровнем активности соответственно. Как видно, указанные значения отличались незначительно, что свидетельствует о фактическом балансе депрессорных и возбудительных постстимульных проявлений активности исследуемых нейронов. Значения тетанической депрессии в депрессорной и депрессорно-возбудительной последовательности и уровни тетанической потенции в возбудительной и возбудительно-депрессорной последовательности нейронов RMG на ВЧС PAG, в сравнении с престимульным уровнем активности на модели БП, отличались достаточно (2.00- и 1.31- против 3.12- и 2.54-кратного, для депрессорных и возбудительных эффектов соответственно) (рис. 3, 4; 6 части а–d), что указывает на превалирование возбудительных постстимульных проявлений активности над депрессорными (порядка 1.56- и 2.0-кратного. Наконец, в нейронах RMG при ВЧС PAG значения тетанической депрессии в депрессорной и депрес-

сорно-возбудительной последовательности и уровни тетанической потенции в возбудительной и возбудительно-депрессорной последовательности, в сравнении с престимульным уровнем активности на модели БП в условиях протекции, исчислялись в пределах 5.06- и 8.96-кратного занижения и 1.39- и 1.29-кратного превышения престимульной активности (рис. 5; 6 части а–d). Иными словами, с учетом лишь кратности измерений сравнительных показателей указанных постстимульных эффектов в патологии, в сравнении с таковыми в условиях протекции, в депрессорной последовательности имело место увеличение тетанической депрессии (5.06 и 8.96 против 2.0 и 1.31 на модели БП, т.е. 2.53 и 6.84-кратно и против 1.51 и 1.40 в норме, т.е. 3.35 и 6.40-кратно), и уменьшение тетанической потенции в возбудительной и в возбудительно-депрессорной последовательности (1.39 и 1.29 на модели БП с протекцией, против 3.12 и 2.54-кратного на модели БП без протекции, т.е. 2.24- и 2.07-кратно) и с приближением к норме (1.39 и 1.29 против 1.30 и 1.28-кратного).

Интересная картина была обнаружена при сравнении частоты пре- и постстимульной активности нейронов RMG при ВЧС PAG в указанных экспериментальных условиях. Престимульная частота активности, предшествующая депрессорным эффектам в норме и на модели БП, достигала кратных значений 11.63, 9.03 и 28.54, 5.26 соответственно, а предшествуемая возбудительными последова-

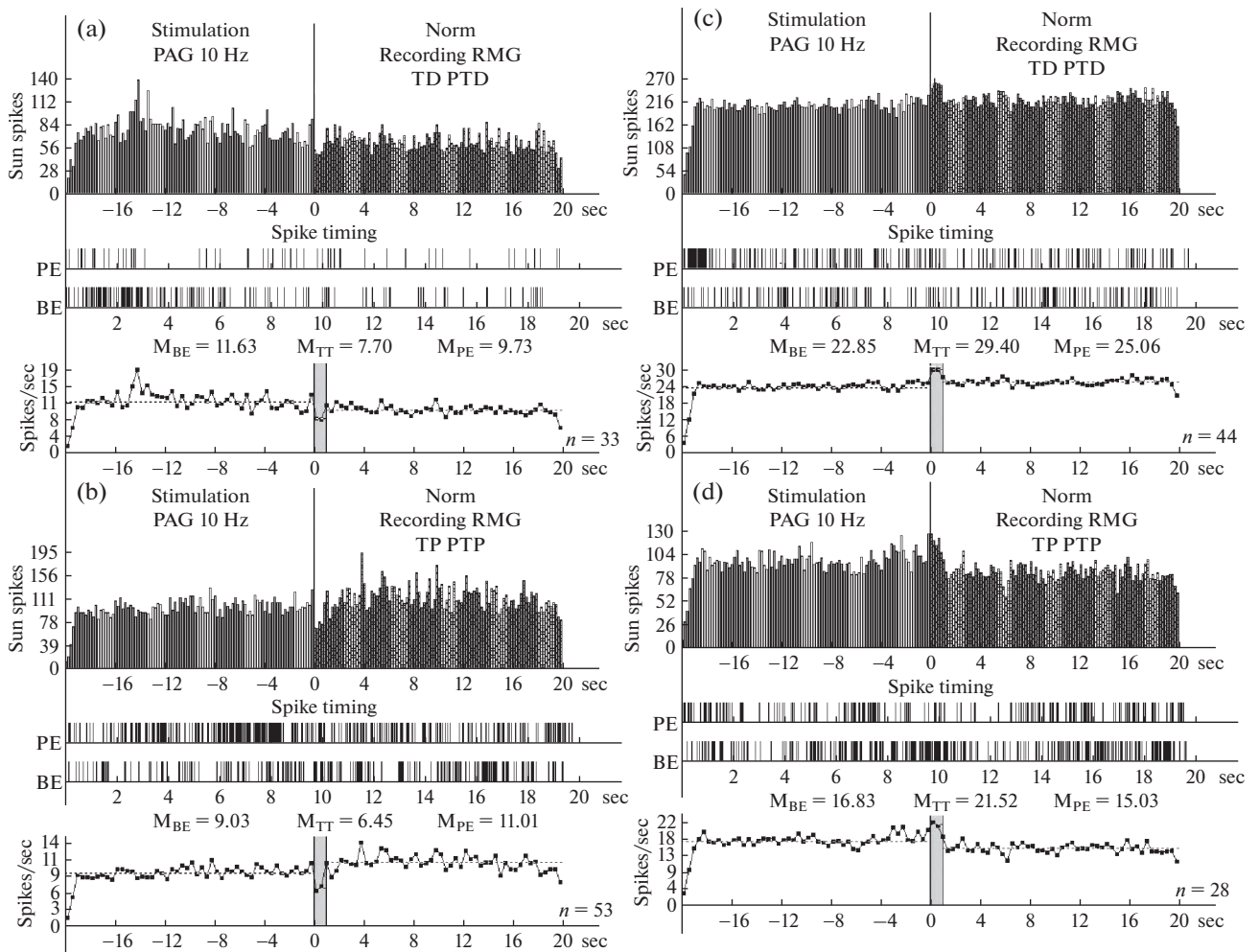


Рис. 3. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (а), в сочетании с посттетаническими возбудительными – ТД ПТП (б), возбудительных – ТП ПТП (с), сопровождаемых депрессорными (д), нейронов RMG, вызванных в ВЧС PAG в норме, в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции). Растеры активности – детальный анализ произвольно избранных одиночных нейронов из данной группы. Диаграммы частоты спайков, представленные в гистограммах, с усредненными значениями (M) для временных отрезков до (BE – before event), на время тетанизации (TT – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event). Справа от диаграмм – количество испытаний (n).

тельностью в норме и патологии 22.85, 16.83 и 70.34, 89.08 соответственно (рис. 3, 4; 6e–h). Престимульная частота активности в нейронах RMG, предшествующая депрессорным и возбудительным последовательностям в условиях протекции, исчислялась в пределах 34.70, 20.70, 9.17 и 9.31, соответственно, по сравнению с 11.63, 9.03, 22.85, 16.83 в норме и 28.54, 5.26, 70.34, 89.08 в патологии без протекции (рис. 3–5; 6e–h).

Иными словами, в патологии, по сравнению с нормой, престимульная частота активности, предшествующая депрессорным постстимульным эффектам, повысилась и понизилась 2.45- и 1.71-кратно, а такая частота активности, предшествующая возбудительным, в обоих случаях повысилась и более значительно (3.07- и 5.30-кратно). В условиях протекции, в сравнении с патологией,

имело место очевидное превышение престимульной частоты, предшествующей депрессорным постстимульным проявлениям активности, в пределах 1.21- и 4.03-кратного, а такая предшествующая возбудительным претерпела значительное снижение порядка 7.67 и 9.57 соответственно, что явно свидетельствует в пользу протекции, более чем успешно справляющейся с чрезмерно повышенной токсической синаптической возбудимостью.

Что же касается постстимульной частоты активности нейронов RMG, то в норме, будучи сопровождаемой депрессорными и возбудительными постстимульными эффектами, она достигала 7.70, 6.45, 29.40 и 21.52, а на модели БП – 15.0, 4.0, 219.48 и 226.10 (рис. 3, 4; 6i–l). Иными словами, на модели БП частоты активности нейронов RMG, сопро-

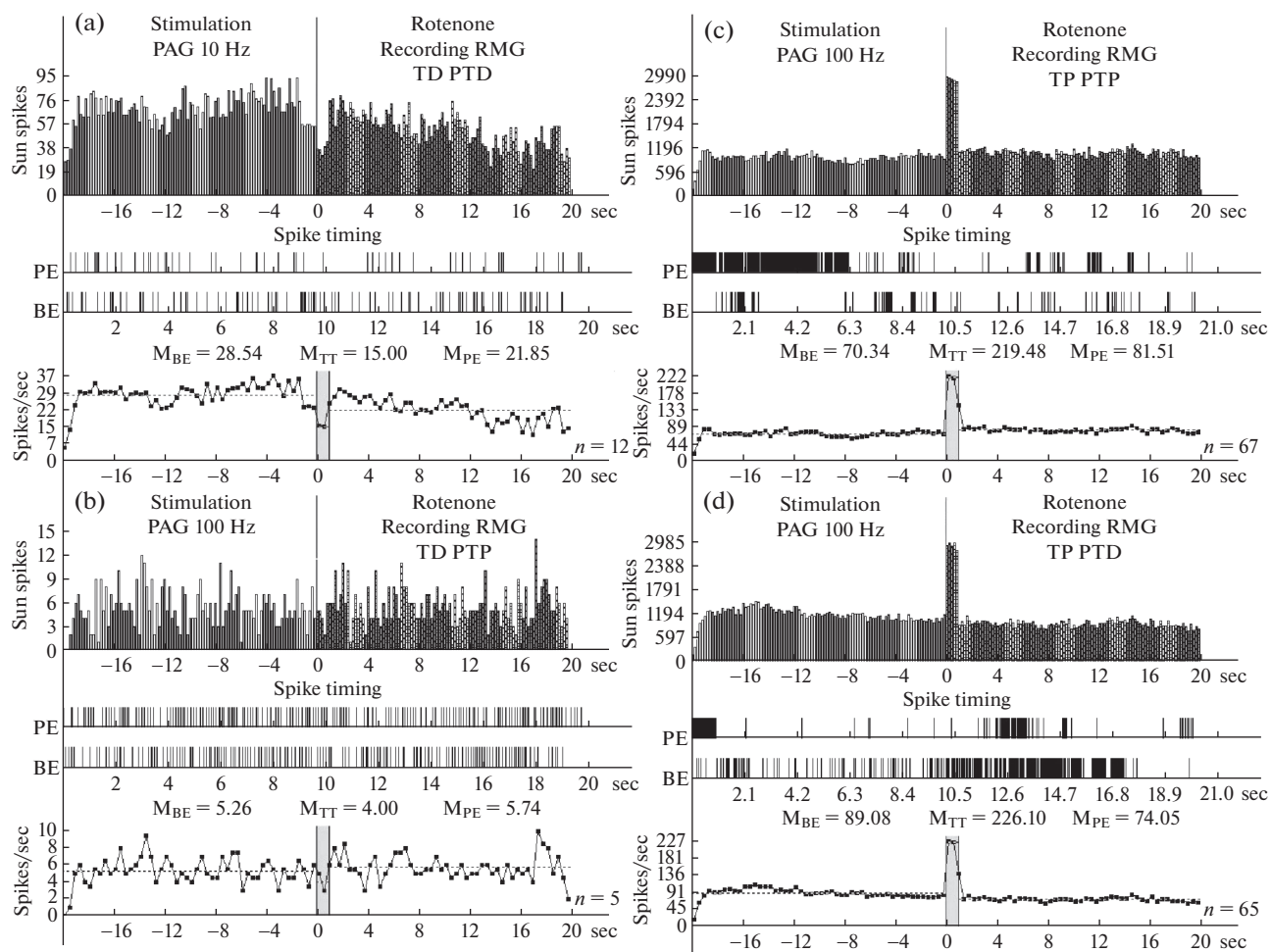


Рис. 4. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (а), в сочетании с посттетаническими возбудительными – ТД ПТП (б), возбудительных – ТП ПТП (с), сопровождаемых депрессорными (д), нейронов RMG, вызванных на ВЧС PAG на модели БП, в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции). Растеры активности на а–д – детальный анализ произвольно избранных одиночных нейронов из данной группы. Справа от диаграмм – количество испытаний (*n*).

вождаемая депрессорными реакциями, превысила норму 2.05-кратно и снизилась 1.61-кратно, соответственно, и намного превысилась порядка 7.46- и 10.50-кратно, сопровождаемая возбудительными эффектами. Таким образом, имело место мощное повышение частоты постстимульной активности, свидетельствующее опять, как и в случае престоимельной частоты, о чрезмерном синаптическом возбуждении (рис. 3, 4; бi–l). Наконец, в условиях протекции произошло фактическое приближение депрессорной постстимульной активности к норме (6.85 против 7.70, 2.31 против 6.45) и резкое снижение постстимульной частоты на модели БП, сопровождаемой возбудительными эффектами (12.75 против 219.48 и 12.00 против 226.10, т.е. 17.21- и 18.84-кратно), с приближением к норме (29.40 и 21.52), что свидетельствует об успешном протекторном эффекте гидрокортизона (рис. 3–5; бi–l).

Несмотря на интенсивные исследования путей, передающих боль, недостаточно внимания уделялось тем из них, которые участвуют в восприятии боли и ее модуляции, т.е. антиноцицептивным, важным компонентом которых являются RMG и PAG. Необходима оценка механизмов боли [3, 4]. Интерес к изучению соотношения возбудительных и депрессорных (тормозных) синаптических процессов в отмеченных антиноцицептивных структурах в норме диктуется необходимостью оценки их поражения в условиях НБ, что в настоящее время весьма актуально, поскольку нет доступной терапевтической стратегии для подавления нестерпимой хронической боли, в частности при БП, в которой среди самых частых немоторных сенсорных отклонений ей принадлежит особое место [4]. Что касается клеточно-молекулярных механизмов повреждений, вызываемых ротеноном, и связи этих нарушений с патологическими изменениями, раз-

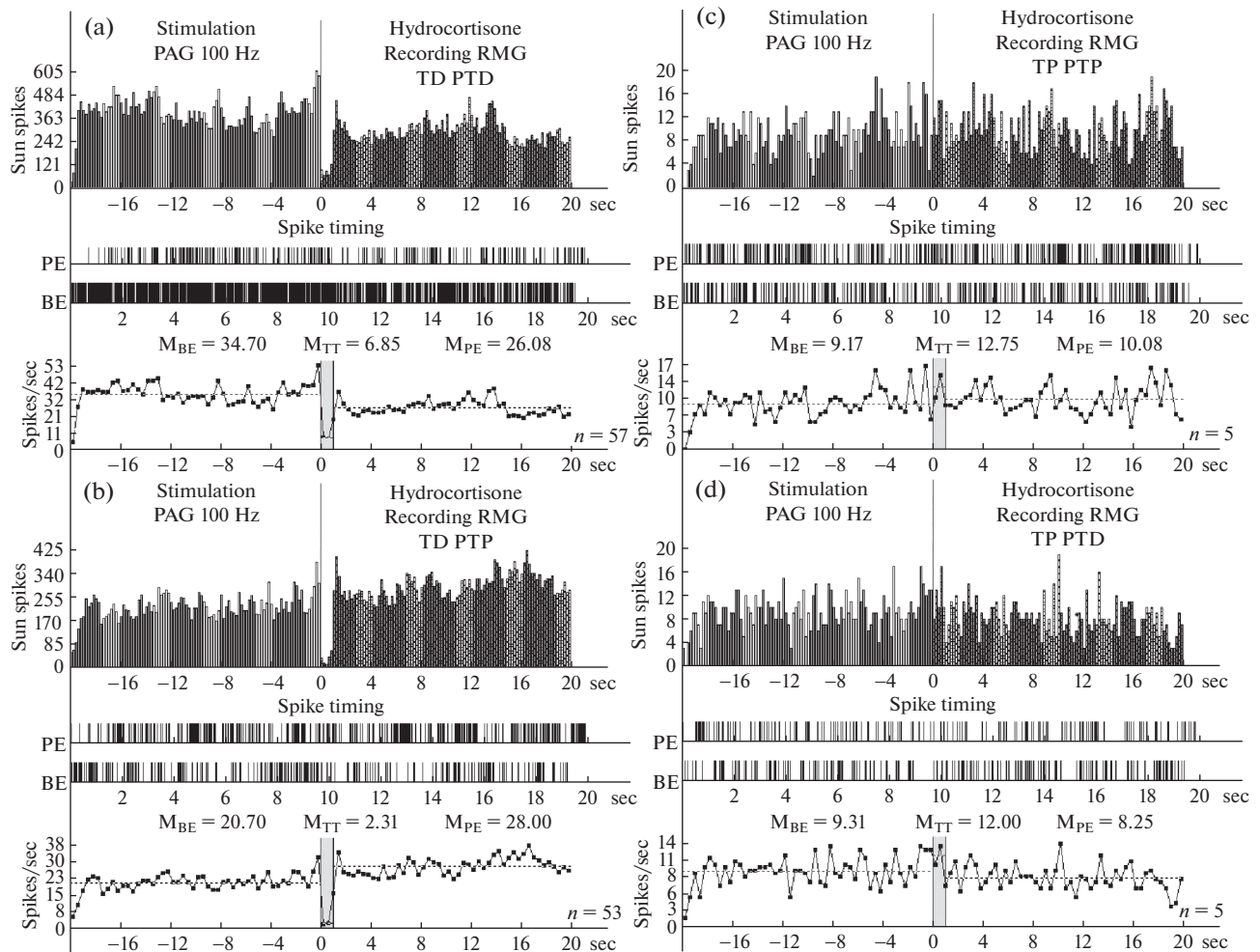


Рис. 5. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (а), в сочетании с посттетаническими возбудительными – ТД ПТП (б), возбудительных – ТП ПТП (с), сопровождаемых депрессорными (д), нейронов RMG, вызванных при ВЧС PAG на модели БП в условиях протекции гидрокортизоном, в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции). Растеры активности на а–д – детальный анализ произвольно избранных одиночных нейронов из данной группы. Справа от диаграмм – количество испытаний (n).

вивающимися при БП, то следует отметить следующее. Ротенон, на основании которого получена нами модель БП и которому посвящено настоящее исследование, содействует дегенерации nigrostriatalного дофаминергического пути, избирательному окислительному повреждению стриатного тела и образованию убиквитин- и α -синуклеин позитивных включений в нигральных клетках, которые сходны с тельцами Леви при БП [13]. К тому же ротеноном индуцированная модель воспроизводит большинство патогенетических механизмов БП, в том числе, формирование нейрональных включений и окислительный стресс [14, 15]. Наконец, на ротеноновой модели получены расстройства, нарушения в эмоционально-чувственной сфере, которые, как известно, являются важнейшими немоторными проявлениями БП [14]. Вместе с LC, RMG, вовлекается в аффективное и когнитивно-

оценочное измерение боли, болевую память и автономные ответы [4]. Хотя точные патогенетические механизмы, приводящие к гибели клеток при БП, не вполне понятны, известен ряд факторов, включающих митохондриальную дисфункцию, окислительный стресс, эксайтотоксичность, дисфункцию убиквитин-протеасомного пути и апоптоз. В отличие от других моделей, ротенон воспроизводит большинство симптомов расстройства движений и гистопатологические особенности БП (в частности, образования телец Леви) и является мощным ингибитором митохондриального дыхания, а последние эпидемиологические исследования показали важную роль ротенона и других пестицидов в развитии спорадического паркинсонизма у населения сельской местности [16]. Согласно другим данным, при системном введении лишь около 20% введенного ротенона попадает в головной мозг, а 80% обуслов-

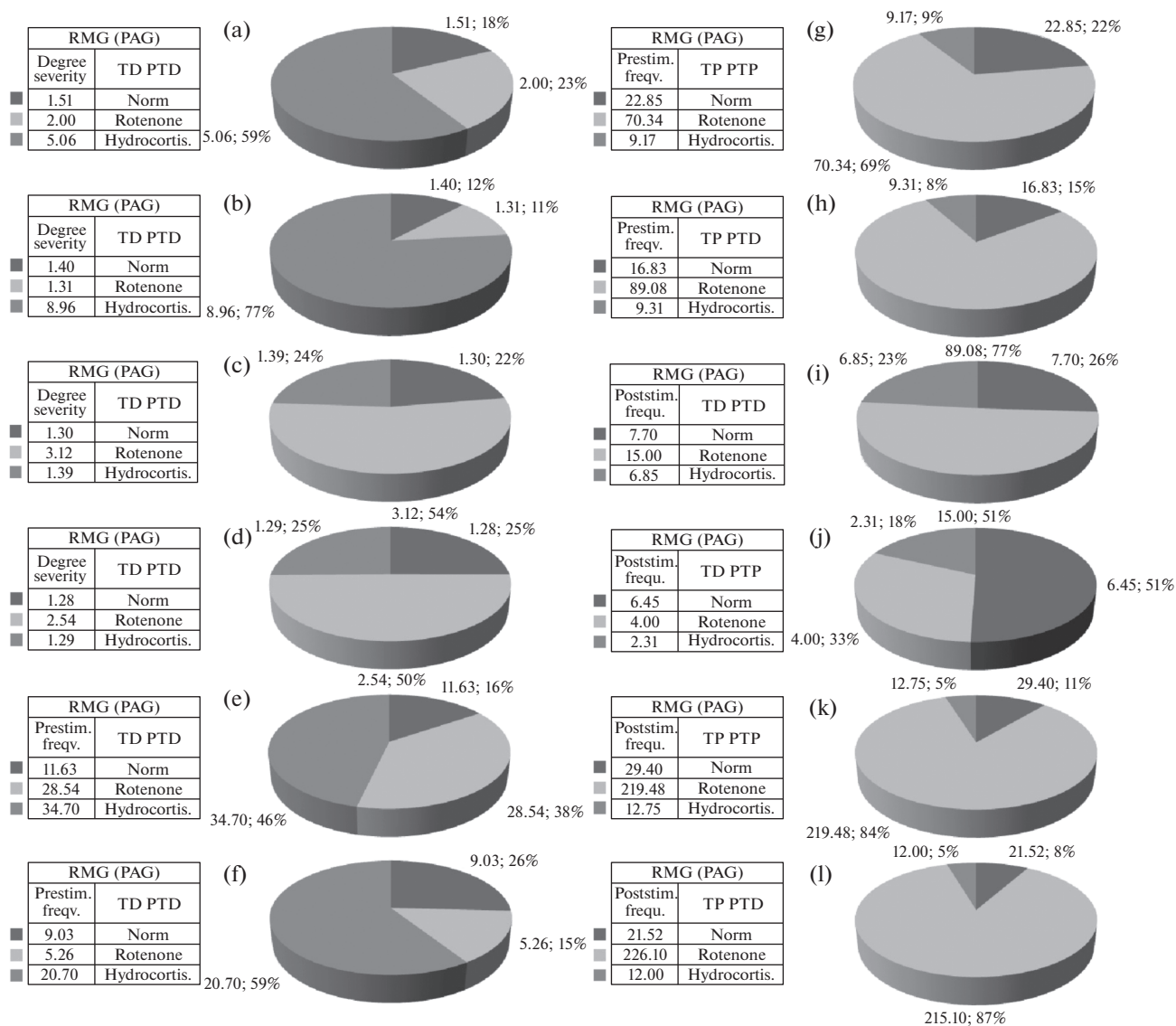


Рис. 6. Процентное и цифровое соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) (а–д), депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбудительно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах RMG при ВЧС PAG, а также частоты престаимпульной (е–h) и постстимульной (i–l) активности, предшествуемых и сопровождаемых указанными проявлениями постстимульной активации, в норме, на ротеноновой модели БП и в условиях протекции гидрокортизоном.

ливают периферическую токсичность внутренних органов крыс [17]. Но токсическое действие на внутренние органы исчезает при стереотаксическом введении ротенона [18], что собственно и было использовано в настоящем исследовании. В заключение, ротеноновые модели на крысах являются моделями, наиболее приближенными к патогенезу болезни БП у человека, в отличие от других нейротоксических моделей, что важно в эволюционном аспекте возможности оценки патологических отклонений и протекции, тождественных для животных и людей [1]. Как было отмечено выше, из ротеноновых моделей *in vivo* наиболее адекватными являются модели со стереотаксиче-

ским и интрацеребральным введением ротенона в черное вещество среднего мозга, что собственно и было использовано в настоящем исследовании. Таким образом, на модели БП выявлено мощное превышение возбудимости постстимульных синаптических процессов в RMG при ВЧС PAG, являющееся неизбежным результатом БП. Следует полагать ее аналог эксайтотоксичности при НБ, возникающей в качестве компенсаторной реакции на снижение возбуждения в результате гибели нейронов, повреждающей их сверхактивацией глутаматных NMDA- и AMPA-рецепторов [19], тем самым вызывая апоптоз нейронов и последующую гибель [20, 21]. В целом эксайтотоксичность сопро-

вождается нарушением кальциевой буферизации, генерацией свободных радикалов, активацией митохондриальной проницаемости и вторичной экс-айтотоксичностью [22]. Отмеченное, согласно нашему предыдущему сообщению, свидетельствует о необходимости углубления, в условиях нейродегенерации, депрессорных эффектов, несущих проекторную нагрузку и снижающих чрезмерные возбуждающие реакции [23].

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Финансирование осуществлялось в рамках программы исследований, запланированных в Институте физиологии НАН РА.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Д.С.С., М.В.П.), сбор данных (М.Э.О., М.А.Д.), обработка данных (Л.Э.А., Л.П.М.), написание и редактирование манускрипта (Д.С.С., М.А.Д.).

БЛАГОДАРНОСТИ

Коллектив авторов выражает благодарность Рубену Эдуардовичу Мегаворяну за содействие в подготовке рисунков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- (2019) Evolution of mechanisms and behaviour important for pain. *Phil. Trans R Soc B* 374 (1785): 20190275. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0275>
- Broen MPG, Braaksma MM, Patijn N, Weber WEJ (2012) Prevalence of pain in Parkinson's disease: a systematic J. review using the modified QUADAS tool. *Movement Disorders* 27 (4): 480–484. <https://doi.org/10.1002/mds.24054>
- de Tommaso M, Arendt-Nielsen L, Defrin R (2016) Pain in Neurodegenerative Disease: Current Knowledge and Future Perspectives. *Behav Neurol* 2016 (1): 1–14. <https://doi.org/10.1155/2016/7576292>
- Ramiro-González M, Fernández-de-las-Peñas C (2013) Pain in Parkinson disease: A review of the literature. *Parkinsonism & Related Disorders* 19 (3): 285–294. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2012.11.009>
- Millan MJ (2002) Descending control of pain. *Prog Neurobiol.* 66: 355–474. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(02\)00009-6](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(02)00009-6)
- Hornung J-P (2012) In *The Human Nervous System (Third Edition)*.
- Kuraishi Y, Fukui K, Shiomi H (1978) Microinjection of opioids into the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat: analgesia and increase in the normetanephrine level in the spinal cord. *Biochem Pharmacol* 27: 2756–2758. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(78\)90054-0](https://doi.org/10.1016/0006-2952(78)90054-0)
- Gebhart GF (2004) Descending modulation of pain *Neurosci Biobehav Rev.* 27: 729–737. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.008>
- Scherder E, Wolters E, Polman C (2005) Pain in Parkinson's disease and multiple sclerosis: its relation to the medial and lateral pain systems. *Neurosci Biobehav Rev* 29: 1047–1105. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.001>
- Paxinos G, Watson C (2005) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier, Academic Press, 5th ed.
- Kilkenny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG (2010) Animal research: Reporting *in vivo* experiments: The ARRIVE guidelines 06 July. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>
- Орлов АИ (2004) Прикладная статистика. [Orlov AI (2004) *Prikladnaya statistika* (In Russ)].
- Schmidt W, Alam MJ (2006) Controversies on new animal models of Parkinson's disease pro and con: the rotenone model of Parkinson's disease (PD). *J Neural Transmis Suppl* 70: 273–276.
- Hoglinger GU, Oertel WH, Hirsch EC (2006) The rotenone model of parkinsonism – the five years inspection. *J Neural Transmis Suppl* 70: 269–723.
- Воронков ДН, Худоерков РМ, Доведова ЕЛ (2013) Изменения нейроглиального взаимодействия в nigrostriатных структурах мозга при моделировании дисфункции дофаминовой системы. *Журн неврол и психиатрии им. С.С. Корсакова* 113 (7): 47–55 [Voronkov DN, Hudoerkov RM, Dovedova EL (2013) *Izmeneniya nejroglialnogo vzaimodejstviya v nigrostriatnyh strukturah mozga pri modelirovanii disfunkcii dofaminovoj sistemy. ZHurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* 113 (7): 47–55 (In Russ)]
- Panov A, Dikalov S, Shalbuyeva N (2005) Rotenone Model of Parkinson Disease. Multiple brain mitochondria dysfunctions after short term systemic rotenone intoxication. *J Biol Chem* 280 (51): 42026–44203. <https://doi.org/10.1074/jbc.M508628200>
- Lapointe N, St-Hilaire M, Martinoli M-G (2004) Rotenone induces nonspecific central nervous system and systemic toxicity. *FASEB J* 18: 717–719. <https://doi.org/10.1096/fj.03-0677fje>
- Xiong N, Huang J, Zhang Z (2009) Stereotaxical Infusion of Rotenone: A Reliable Rodent Model for Parkinson's Disease. *PLoS ONE.* 4 (11): 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.000787>
- Matthew RH, Heather LS, Peter RD (2004) Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *NCI.* 45 (5): 583–595. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2004.03.007>
- Lucas DR, Newhouse JP (1957) The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *AMA Arch Ophthalmol* 58 (2): 193–201. <https://doi.org/10.1001/archophth.1957.00940010205006>
- Olney JW (1969) Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 164 (3880): 719–721. <https://doi.org/10.1126/science.164.3880.719>

22. Xiao-xia D, Yang W, Zheng-hong Q (2009) Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sinica* 30: 379–387.
23. Саркисян ДжС, Погосян МВ, Даниелян МА, Степанян АЮ, Вардамян АВ (2018) Назначение депрессорных синаптических процессов в условиях специфической нейродегенеративной патологии и протекции. LAP LAMBERT Academic Publishing RU. 2018. [Sarkissian JS, Poghosyan MV, Danielyan MA, Stepanyan HY, Vardanyan AV (2018) The assign of depressor synaptic processes in condition of specific neurodegenerative pathology and protection. LAP LAMBERT Academic Publishing RU (In Russ.).]

A Correlation of Excitatory and Inhibitory Synaptic Processes in the Antinociceptive Raphe Magnus Nucleus in Hydrocortisone-Protected Model of Parkinson's Disease

M. V. Poghosyan^a, M. E. Hovsepyan^a, M. H. Danielyan^a, L. E. Hambardzumyan^a, L. P. Manukyan^a and J. S. Sarkissyan^{a, #}

^a Orbeli Institute of Physiology, National Academy of Sciences of the Republic of Armenia, Yerevan, Armenia

[#]e-mail: johnsarkissyan@gmail.com

In neurodegenerative diseases, most often in Parkinson's disease (PD), neurodegeneration involves antinociceptive centers, which is accompanied by persistent pain not relieved by opioids. In this study, in three experimental series carried out on 13 white mongrel rats, we analyzed the impulse activity of 390 single neurons of the raphe magnus nucleus (RMG) elicited by high-frequency stimulation (HFS) of the periaqueductal gray matter (PAG) under normal conditions, in the rotenone model of PD, and under conditions of hydrocortisone protection. Based on the programmatic mathematical analyses of the average degree distribution of all frequency ranges of post-stimulus depressor and excitatory synaptic effects, a sharp exceedance of tetanic and post-tetanic excitatory effects was revealed in the model of PD. At the same time, there was a multiple decrease in the number of neurons responding with analogous depressor synaptic reactions, while responding with excitatory reactions when the number of such increased. This effect was due to excessive excitability, attesting to a well-known compensatory increase in the excitability of the preserved RMG neurons, accompanied by their inevitable degenerative damage. After hydrocortisone exposure, the depressor synaptic reactions increased drastically with a significant increase in the number of the neurons involved, indicating a neutralization of the excitatory reactions that resulted in their natural decay. Considering the protective role of depressor reactions that we found previously, the analogous effect of hydrocortisone is quite evident. Moreover, on the PD model, RMG neurons during HFS of the PAG exhibited a pronounced (3- and 5-fold) increase in the pre-stimulus frequency of activity that preceded the depressor post-stimulus synaptic reactions. Hydrocortisone protection led to a significant (7- and 9-fold) reduction in the frequency of pre-stimulus impulse activity that preceded excitatory post-stimulus manifestations of activity, clearly arguing in favor of the protective effect of hydrocortisone. In the PD model, the post-stimulus frequency of RMG neuronal activity, accompanied by excitatory synaptic effects, far (7–5-fold and more) exceeded the norm, also attesting to a huge increase in the excitability of neurons. Under hydrocortisone protection, there was a sharp (18.3- and 17.7-fold) reduction in the post-stimulus frequency of impulse activity in RMG neurons in the PD model, accompanied by the excitatory post-stimulus effects. The data obtained herein demonstrate a pronounced protective effect of hydrocortisone.

Key words: rotenone model of Parkinson's disease, single-neuron activity of RMG neurons, high-frequency stimulation of the periaqueductal gray matter, hydrocortisone